

## Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Rhoeo discolor* (Barquilla)

SANDOVAL, Francisca\*†, HERNANDEZ, Lorena, HERNANDEZ, Diana, FLORES, Adiel y CONTRERAS, Raúl

Recibido 12 de Enero, 2015; Aceptado 2 de Marzo, 2015

### Resumen

La enorme aplicación de las plantas medicinales con fines terapéuticos crea la urgente necesidad de realizar estudios científicos, con el objetivo de conocer los metabolitos contenidos en las especies para su aplicación. El estudio fitoquímico de plantas aromáticas, reveló que el alto contenido de monoterpenos en sus aceites esenciales, eran los causantes de la acción medicinal, ya que estos compuestos casi en su mayoría presentan acción bactericida y también actúan como sedantes en el aparato digestivo. En los últimos años se han descubierto que existen otras familias de plantas que aunque no se caracterizan por ser "aromáticas" si poseen propiedades medicinales muy notorias en el tratamiento de enfermedades del aparato digestivo, entre otros ejemplos es el caso de la familia Commelinaceae. En la región de Veracruz fácilmente se puede obtener la especie de *Rhoeo discolor*, por lo que resulta muy factible su evaluación, ya que por usos y costumbres los indígenas le atribuyen características antiinflamatorias y antibactericidas, así como diferentes investigadores han realizado estudios de actividad biológica como es el caso del Dr. Miguel Ángel Domínguez Ortíz en quien está basada esta investigación. En el presente trabajo de investigación se realizó la evaluación antibacteriana de la especie antes mencionada cultivada en esta región, así mismo se caracterizó químicamente mediante cromatografía de alta resolución HPLC y espectroscopia en región infrarroja FTIR, con ello se identificaron los metabolitos secundarios que le confiere la propiedad antimicrobiana en bacterias Gram Negativas como lo son: *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Proteus Mirabilis*.

### Antimicrobiano, Evaluación, metabolitos

**Citación:** SANDOVAL, Francisca, HERNANDEZ, Lorena, HERNANDEZ, Diana, FLORES, Adiel y CONTRERAS, Raúl. Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Rhoeo discolor* (Barquilla). Revista de Energía Química y Física 2015, 2-2: 271-277

### Abstract

The massive application of medicinal plants for therapeutic purposes creates the urgent need for scientific studies, in order to meet the metabolites contained in the species for its implementation. The phytochemical study of herbs, revealed that the high content of monoterpenes in essential oils, were the cause of the medicinal action, since these compounds have almost entirely bactericidal action and also act as sedatives in the digestive tract. In recent years have found that there are other families of plants but are not characterized as "aromatic" if they have very prominent medicinal properties in the treatment of digestive diseases, among other examples is the case of Commelinaceae family. In the region of Veracruz can easily get the kind of *Rhoeo discolor*, so it is very feasible evaluation, since by custom indigenous attributed inflammatory and antibactericidas characteristics and different researchers have conducted studies of biological activity is the case of Dr. Miguel Ángel Domínguez Ortiz who is based in this research. In the present investigation the antibacterial evaluation of the above species cultivated in this region was performed, also was chemically characterized by high performance liquid chromatography HPLC and spectroscopy in infrared region FTIR, thereby secondary metabolites that confers identified the antimicrobial property in Gram negative bacteria such as: *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Proteus Mirabilis*.

### Antimicrobial, Evaluation, metabolite

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: sanrey\_10@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

La problemática que se presenta en cuanto al exceso uso de medicamentos sintéticos que son perjudiciales para la salud, como son las adicciones, efectos secundarios no deseados tales como el vómito, alergias, entre otros, va en aumento.

Actualmente el uso de plantas con propiedades medicinales es una actividad empírica muy generalizada en diversas civilizaciones. Esta práctica ancestral está muy arraigada en el país y existe un gran número de especies utilizadas en Medicina Tradicional. Entre ellas destaca el "Maguey morado" (*Rhoeo discolor*) conocida también como "Barquilla" perteneciente a la familia Commelinaceae utilizada como antiinflamatoria, antibacteriana y para el tratamiento de enfermedades que afectan el aparato digestivo.

En el presente trabajo se realiza la caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana con especies Gram negativas, con la finalidad de identificar los metabolitos secundarios capaces de actuar con dichas especies de bacterias y a su vez dar valor agregado a una planta que en este momento no lo tiene.

## Metodología

### Obtención de la materia prima

La zona en donde se recolectó la planta en estudio fue en la congregación "El Palmar" al este de la Ciudad de Papantla, Veracruz, en la desviación del Kilómetro 180, a partir de plantíos de traspatios.

## Preparación del material Vegetal

La cantidad total de hojas de la planta recolectadas, se dividieron en dos partes, dejando una de ellas a secar a temperatura ambiente y la otra parte se mantuvo fresca. El material vegetal fresco se lava y se corta en cuadros pequeños se somete al proceso de maceración utilizando alcohol etílico, esta mezcla es depositada en un recipiente color ambar que impida el paso de la luz con la finalidad de evitar el proceso de descomposición de los metabolitos durante aproximadamente dos meses a temperatura ambiente. Se realiza la misma operación con el material vegetal seco.

### Obtención del extracto de *Rhoeo Discolor*

Utilizando un rotavapor marca Yamato modelo RE300, se realiza la destilación del alcohol etílico introduciendo en el matraz 250 mL del extracto de barquilla seca a 75 revoluciones y 55 °C, se obtiene el extracto de la planta y se realiza el mismo procedimiento con las hojas de *Rhoeo discolor* fresco.

### Caracterización química por cromatografía HPLC y espectroscopia FTIR

El extracto de *Rhoeo Discolor* se somete a Cromatografía HPLC y espectroscopia FTIR en las instalaciones del Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías (CNMN) del Instituto Politécnico Nacional. Referente a la cromatografía la muestra de interés se hace pasar mediante un flujo de disolvente hasta una columna rellena del material especial para llevar a cabo la separación de los componentes, posteriormente dichos componentes pasan a un sistema de detección acoplado con un sistema de grabación de datos.

Para espectroscopia la radiación IR es transmitida (o reflejada) a través de una muestra. Una parte de la radiación IR es absorbida (o reflejada) por la muestra y otra es transmitida (o reflejada). El espectro resultante representa la absorción molecular y la transmisión, creando una impresión digital molecular de la muestra. Igual que con una impresión digital.

### Método de difusión en placa

Se utilizan cajas Petri de 9 cm de diámetro por 1 cm de altura, en las que se vierten 15 mL de agar nutritivo, empleando 4 tipos diferentes de bacterias, adquiridas en el Instituto Mexicano del Seguro Social de Poza Rica, Veracruz; las cuales son: *E Coli*, *Pseudomona Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Proteus*. Para la siembra por estría se utiliza el asa de platino.

Para realizar la difusiones se inoculan bacterias en una caja petri con agar nutritivo mediante estría masiva y se coloca en la superficie sensidiscos impregnados previamente con extracto de *Rhoeo discolor* en diluciones con alcohol a 1:10, 1:100 y al 100%. El extracto se difunde desde el disco a través del gel, de manera que las concentraciones más altas se encuentran en las proximidades del disco y progresivamente van disminuyendo conforme se aleja del mismo. Después se procede a la incubación en la estufa bacteriológica, en un periodo de 24 a 48 horas a una temperatura constante de 36 °C.

### Concentración Mínima Bactericida

Se realizan microdiluciones con la finalidad de identificar la placa con la concentración bactericida más baja (CMB).

Para realizar la difusiones se inocula una bacteria en una caja petri con agar Mueller-Hinton mediante estría masiva y se coloca en la superficie sensidiscos impregnados previamente con extracto de *Rhoeo discolor* en diluciones con alcohol a 1:10, 1:100 y al 100%. Después de haber realizado las siembras y las microdiluciones, se procede a la incubación en la estufa bacteriológica, en un periodo de 24 horas a una temperatura constante de 36 °C.

### Resultados

Se obtuvo el extracto procesado con planta macerada seca dando una tonalidad de café oscuro, mientras que el extracto en fresco fue de color púrpura. La pureza de los extractos se obtuvo mediante lavados con alcohol etílico a través de la filtración. El resultado de los análisis químicos realizados en el laboratorio de las instalaciones del Instituto Politécnico Nacional, muestran los componentes de *Rhoeo discolor* en base a sus pesos moleculares y longitud de onda respectivamente.

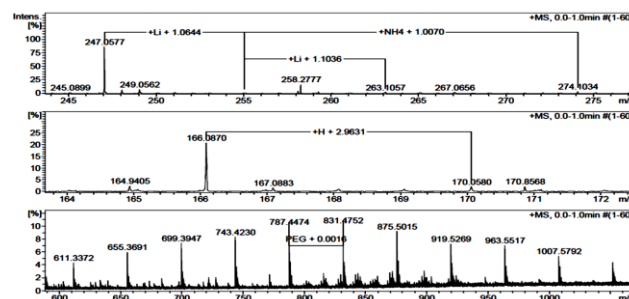


Figura 1 Resultados del análisis cromatográfico

En la figura 1 se observa la presencia de compuestos orgánicos con pesos moleculares de 219.0273 g/mol que indica la presencia de Acetato de Zinc dihidratado en un 100% de intensidad, mientras que en menor intensidad con un 5% se identifica el 1.12 benzopireno con un peso molecular de 274.1034 g/mol, así también se aprecia como hallazgo compuestos de tipo alcaloide con un peso molecular de 611 g/mol.

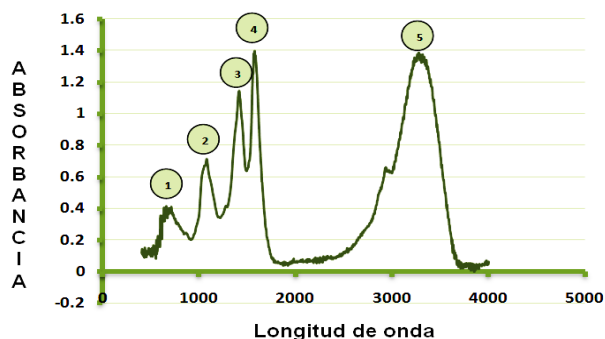


Figura 2 Resultados de Espectroscopia FTIR.

En la figura 2 se integran los resultados de la interpretación del FTIR, en ella se realizó la interpretación.

PESO MOLECULAR gr/mol	COMPONENTE	GRUPO FUNCIONAL
112.90	Octano	Alcano
140.07	Tirosol	Derivado Fenólico
175.05	7-Hidroxi-4-metilumarina	Fenilpropanoide
203.05	Triptófano	Aminoácido apolar
219.02	Acetato de Zinc	Acetato
247.05	Bromuro de Estroncio	Sal
258.27	Ácido Palmítico	Ácido
274.10	1,12 Benzoperileno	Hidrocarburo
164.94	Ácido p-cumarico	Ácido
166.08	Fluoreno	Hidrocarburo aromático
167.08	Fenilalanina	Aminoácido
170.85	Metronidazol	2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etanol
611.33	Reserpina	Alcaloide

Tabla 1 Se observan los grupos funcionales respecto a cada peso molecular de los componentes de *Rhoeo discolor*.

ONDA	PUNTO (cm⁻¹)	GRUPO FUNCIONAL
1	630.47	Cloroalcanos
2	1063.81	Aminas alifáticas
3	1400.44	Alcoholes Fenoles
4	1562.24	Alcoholes Fenoles Aminas Derivados de A. Carboxílico
5	3230.50	Alcoholes Vinilo Fenoles

Tabla 2 Grupos funcionales en base a la interpretación de la longitud de onda de la espectroscopia FTIR.

Básica de espectros en la región infrarroja, resultado de la espectroscopia realizada. En la tabla 2 Se muestran 5 puntos con diferentes grupos funcionales en base a su longitud de onda.

Se aprecia con mayor intensidad a los alcoholes, vinilo y fenoles, en cambio en menor intensidad se encuentra el grupo de los Cloroalcanos.

Se realizó la determinación de la actividad antimicrobiana utilizando como medio inhibidor el extracto de *Rhoeo discolor* sobre siembra de bacterias Gram Negativas; *Escherichia Coli*, *Pseudomona Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Proteus Mirabilis*. Se determinó la concentración mínima inhibitoria tomando en cuenta crecimiento en el halo de inhibición, también se muestran las diferencias entre el extracto de *Rhoeo discolor* fresco y seco. En las siguientes tablas se muestra la medida total de la zona de inhibición expresada en milímetros y según el resultado que se muestra se puede identificar si las bacterias son: Sensible (S), Intermedio (I) o Resistente (R) al extracto de *Rhoeo discolor* en función.

		Bacterias			
		<i>Escherichia Coli</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Pseudomona Aeruginosa</i>
<i>Rhoeo Discolor Fresca</i>	1:10	R	R	R	I
	1:100	S	S	S	S
	100%	R	R	R	R
<i>Rhoeo Discolor Seca</i>	1:10	S	S	S	I
	1:100	I	I	S	I

Tabla 3 Resultados totales de inhibición en las diferentes bacterias

En la tabla 3 se muestra los resultados totales del efecto que presentó el extracto en las diferentes bacterias. se puede observar como ambos extractos de *Rhoeo discolor* actuaron sobre las cepas de las diferentes bacterias, al ser aplicado en su estado fresco, contrarresto a las 4 bacterias en una dilución de 1:100 y en las restantes fueron resistentes las bacterias exceptuando solo a la *pseudomona* en la cual se observó un poco de inhibición clasificándose como intermedio.

Al ser aplicada en su estado seco fue sensible a 3 bacterias en 1:10 y en otra a 1:100, las restantes fue el efecto de forma intermedia, únicamente en las diluciones del 100% presentó total resistencia. Ambos extractos son efectivos diluidos en diferentes cantidades, sin embargo, en los dos extractos las bacterias se muestran resistentes al ser contrarrestadas el extracto sin ser diluido.

Se realizó la determinación de la concentración mínima bactericida realizando microdiluciones y tomando en cuenta el halo de inhibición, también se muestran las diferencias entre el extracto de *Rhoeo discolor* fresco y seco, como se muestra en la tabla 4.

Diluciones(Ml)	Observaciones			
	Zona De Inhibición	Rhoeo Discolor Fresca	Zona De Inhibición	Rhoeo Discolor Seca
<i>Escherichia Coli</i>				
1:10	0mm	R	0mm	R
1:100	0mm	R	0mm	R
<i>Klebsiella</i>				
1:10	1mm	R	0mm	R
1:100	0mm	R	0mm	R
<i>Proteus Mirabilis</i>				
1:10	5mm	S	2mm	I
1:100	1mm	R	3mm	S
<i>Pseudomona Aeruginosa</i>				
1:10	2mm	I	1mm	R
1:100	1mm	R	1mm	R

**Tabla 4** Resultados totales de la evaluación de *Rhoeo discolor* en las diferentes bacterias con Microdiluciones.

## Discusión

En base a la investigación realizada por el Dr. Miguel Ángel Domínguez Ortiz se comprueba que a comparación con la evaluación realizada por el, ésta contiene cinco de los metabolitos que el encontró. La diferencia que se tuvo en cuanto a la caracterización química fue que él utilizó cromatografía de capa delgada, en columna, en capa preparativa y espectroscopia RMN.

Sin embargo a pesar de la utilización de diferentes equipos se logro encontrar los principales componentes que hacen a la planta medicinal.

Es pertinente mencionar que la presencia de compuestos con pesos mayores a 600 g/mol es un indicativo de que esta planta en investigación posee propiedades como estimulantes nerviosos que se concentran en la familia de los alcaloides. Al contener *Rhoeo discolor* estos compuestos se puede comprobar el porqué de sus beneficios ante enfermedades intestinales, infecciosas e incluso nerviosas, al contener triptófano ayuda a controlar el estrés, es antidepresivo y favorece el sueño, y el que se encuentra en mayor proporción es el acetato de zinc que se generalmente en forma de ungüento tópico para combatir la picazón o bien en combinación con un antibiótico, el acné.

## Conclusiones

El conocimiento de la composición química de los seres vivos, en este caso de las plantas (fitoquímica), no es una tarea difícil de realizar, debido al gran número de compuestos químicos (metabolitos) presentes en los vegetales y a la enorme diversidad cultural de ellos, los procesos de extracción, separación e identificación son laboriosos, sin embargo, los resultados positivos de este tipo de investigación son una gran aliciente para continuar contribuyendo en el conocimiento de la química de las plantas, sobre todo, si se trata de especies muy utilizadas empíricamente con algún propósito medicinal (Dr. Miguel Ángel Domínguez Ortiz, 2003).

En base a los resultados obtenidos en la cromatografía HPLC se afirma la presencia de compuestos orgánicos de los grupos alcanos, derivados fenólicos, aminoácidos, acetatos, ácidos, hidrocarburos y alcaloides, siendo este último un hallazgo.

Por medio de la espectroscopia FTIR se puede comprobar que los grupos funcionales identificados son los metabolitos secundarios que le confieren la propiedad antibacteriana tal como lo afirma el Dr. Miguel Ángel Domínguez Ortiz. Por lo tanto esta investigación realizada de *Rhoeo discolor* proporciona resultados favorables y justifica el valor medicinal que tiene esta planta ya que efectivamente contiene metabolitos secundarios que la hacen medicinal, tomando en cuenta que algunos de los grupos funcionales determinados en la prueba de cromatografía HPLC y espectroscopia FTIR son los mismos.

Al utilizar el extracto ante bacterias gram negativas se observó un efecto positivo, ya que inhibió a las cuatro bacterias en diferentes diluciones. Es importante mencionar que las bacterias utilizadas causan efectos dañinos al aparato digestivo, sin embargo al conocer ciertos componentes de la planta, explica el porqué el extracto de *Rhoeo discolor* las contrarresta.

Finalmente al hacer referencia a la bibliografía y tomando como referencia la investigación del Dr. Miguel Ángel Domínguez en el 2003 acerca de que la planta contiene compuestos cumarínicos y que las pruebas químicas lo corroboraran es este compuesto uno de los que la hace antiinflamatoria y bactericida.

## Referencias

- A. (July/Sept. 2008). Meiosis en mutantes desinálticos con restitución cromosómica en *Rhoeo spathacea* (*Commelinaceae*). México: Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
- A. Reyes Munguía, E. A. (2009). Propiedades antioxidantes del maguey morado (*Rhoeo discolor*). *CyTA: Journal of food*, Cabello, R. R. (2011). *Microbiología y Parasitología Humana*. Medica Panamericana.
- Alberto Landa Martínez  
<http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisisquimicos/espectroscopa-de-resonancia-magnetica-nuclear>.
- CENGAGE Learning. Stanier, R. Y., Ingraham, J. Y., Wheelis, M. L., & Painter, P. R. (1992). *Microbiología Segunda Edición*. Reverté.
- Domínguez Ortiz M. (2003). Elucidación estructural y actividad antimicrobiana de los metabolitos presentes en *Rhoeo discolor*. Tecomán, Colima: Universidad de Colima.
- Est. Verónica del Carmen Díaz Oliva, Dr. Manasés González Cortazar, Dr. Carlos Ernesto Lobato García, L.Q. Abraham Gómez Rivera - 2008.  
<http://www.archivos.ujat.mx/dip/divulgacion%20y%20video%20cientifico%202008/DACB/VDiazO.pdf>
- Evangelina Olivas E., L. R. (2004). Manual de prácticas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. García-Velázquez,
- L.Ingraham, J., & Ingraham, C. A. (1998). *Introducción a la Microbiología*. Reverte S.A.
- María José Climent Olmedo, H. G., & Bertomeu, I. M. (2005). *Experimentación en Química: Química Orgánica, Ingeniería Química*. Universidad Politécnica de Valencia.

Mireya de la Garza, Rosa Luisa Santillán Baca, Javier Hernández Martínez, Miguel Ángel Ortiz Domínguez 2002.

<http://www.uv.mx/gaceta/Gaceta88/88/ACiencia/ABC01.htm>.

Sharapin, N. (2002). Fundamentos de Tecnología de productos Fitoterapéuticos. Quebecor Impreandes.

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2010). Fundamentos de Química Analítica.